

ELECTRICAL STIMULATOR AND METHOD FOR PROMOTING OR SUPPRESSING GROWTH OF BIOLOGICAL CELL OR BIOLOGICAL TISSUE USING THE SAME ELECTRICAL STIMULATOR

Publication number: JP2004089018

Publication date: 2004-03-25

Inventor: TOKUTOMI TADASHI

Applicant: JAPAN SCIENCE & TECH CORP; KUMAMOTO TECHNOLOGY & INDUSTRY

Classification:

- International: C12M1/00; C12M1/42; C12N5/06; C12M1/00; C12M1/42; C12N5/06; (IPC1-7): C12M1/00; C12M1/42; C12N5/06

- European:

Application number: JP20020251436 20020829

Priority number(s): JP20020251436 20020829

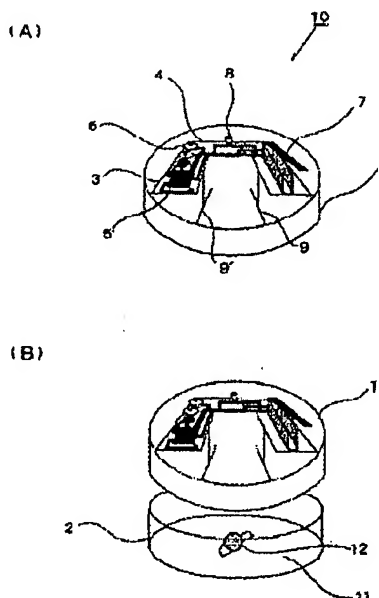
Report a data error here

Abstract of JP2004089018

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide an electrical stimulator applying electrical stimulation to a biological cell or a biological tissue in a process for growing the biological cell or biological tissue and to provide a method for promoting or suppressing the growth of the biological cell or biological tissue using the stimulator.

SOLUTION: The electrical stimulator is equipped with a current-producing means 4 for producing a pulsed current and regulating the intensity, etc., of the pulsed current, a cap 1 for fixing the current-producing means 4 and a pair of electrodes 9 and 9' suspended from the cap 1 and further connected to both ends of the current-producing means 4 so as to apply the pulsed current as the electrical stimulation to a culture medium 11 in a culture vessel 2.

COPYRIGHT: (C)2004,JPO



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

JP 2004 89018 A 2004.3.25

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-89018

(P2004-89018A)

(43) 公開日 平成16年3月25日(2004.3.25)

(51) Int.Cl.⁷

C12M 1/00

C12M 1/42

C12N 5/06

F I

C12M 1/00

C12M 1/42

C12N 5/00

A

E

テーマコード (参考)

4B029

4B065

審査請求 未請求 請求項の数 11 O L (全 10 頁)

(21) 出願番号 特願2002-251436 (P2002-251436)

(22) 出願日 平成14年8月29日 (2002.8.29)

(71) 出願人 396020800

科学技術振興事業団

埼玉県川口市本町4丁目1番8号

(71) 出願人 801000050

財団法人くまもとテクノ産業財団

熊本県上益城郡益城町大字田原2081番地10

(74) 代理人 110000109

特許業務法人特許事務所サイクス

(72) 発明者 徳富 直史

熊本県熊本市出仲間1丁目3-1-702

Fターム (参考) 4B029 AA08 AA24 BB11 CC02 CC08

GA03 GB03

4B065 AA90X AC20 BC50 CA44

(54) 【発明の名称】 電気刺激装置及びその電気刺激装置を用いた生体細胞若しくは生体組織の成長促進又は抑制方法

(57) 【要約】

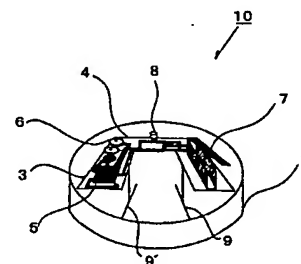
【課題】 生体細胞又は生体組織の成長過程において、生体細胞又は生体組織に電気刺激を与えることのできる電気刺激装置、及びその装置を用いた生体細胞又は生体組織の成長促進又は抑制方法の提供。

【解決手段】 パルス電流を発生させ、かつパルス電流の強度等を調整するための電流発生手段4と、前記電流発生手段4を固着するためのキャップ1と、前記キャップ1から懸垂され、かつパルス電流を電気刺激として培養容器2内の培地11に与えるために前記電流発生手段4の両端部に連結された1対の電極9、9'とを有する。

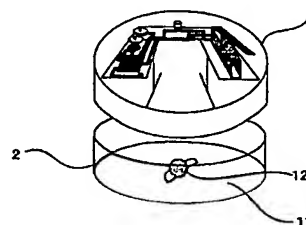
【選択図】

図1

(A)



(B)



(2)

JP 2004 89018 A 2004.3.25

【特許請求の範囲】

【請求項1】

パルス電流を発生させ、かつパルス電流の強度等を調整するための電流発生手段と、前記電流発生手段を固着するためのキャップと、前記キャップから懸垂され、かつパルス電流を電気刺激として培養容器内の培地に与えるために、前記電流発生手段の両端に連結された1対の電極とを有することを特徴とする生体細胞又は生体組織の電気刺激装置。

【請求項2】

前記電流発生手段が、ロジックIC、マイクロスイッチ及び電源からなる電気回路である請求項1に記載の電気刺激装置。

【請求項3】

前記電源が電池又は電気供給装置である請求項2に記載の電気刺激装置。

【請求項4】

前記電気回路がプリント基板上に形成され、かつ前記プリント基板と前記キャップとが一体的に装着されている請求項2又は3に記載の電気刺激装置。

【請求項5】

前記電気回路が、培養容器内の培地に電気刺激として与えられるパルス電流の供給状況を監視するためのモニタリング装置をさらに有する請求項2～4のいずれか一項に記載の電気刺激装置。

【請求項6】

前記モニタリング装置が発光素子である請求項5に記載の電気刺激装置。

【請求項7】

前記キャップが、マルチウェルプレートのウェル配列に対応可能なキャップである請求項1～6のいずれか一項に記載の電気刺激装置。

【請求項8】

前記キャップを前記培養容器に着することにより、前記培養容器内の培地に装入された生体細胞又は生体組織に前記電極から前記パルス電流が電気刺激として与えられる請求項1～7のいずれか一項に記載の電気刺激装置。

【請求項9】

生体細胞若しくは生体組織の成長を促進又は抑制させるために用いられる請求項1～8のいずれか一項に記載の電気刺激装置。

【請求項10】

前記パルス電流が、生体細胞若しくは組織細胞の成長を促進させ又は抑制させる強度を有する請求項1～9のいずれか一項に記載の電気刺激装置。

【請求項11】

請求項1～10のいずれか一項に記載の電気刺激装置を用いた生体細胞若しくは生体組織の成長促進又は抑制方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する分野】

本発明は、生体細胞、組織等の電気刺激装置、及び生体細胞、組織等の成長促進又は抑制方法に関する。より詳しくは、本発明は、研究所等において実験で用いられる生体細胞、組織等に特定の電気刺激を与えることにより生体細胞、組織等の成長を促進又は抑制させることのできる電気刺激装置及びその電気刺激装置を用いた生体細胞、組織等の成長促進又は抑制方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

てんかん性痙攣や低酸素脳症のように神経細胞の過剰興奮がその直接的原因とされる変性疾患の治療法開発にとって、効果的なin vitro病態モデルの開発は重要である。

【0003】

従来、生体の培養細胞や組織に興奮性神経伝達物質を大量投与する試みや通常の電気刺激

10

20

30

40

50

(3)

JP 2004 89018 A 2004.3.25

装置を用いた電気刺激が行われてきた。しかしながら、興奮性神経伝達物質の大量投与では、刺激を受ける受容体の種類が興奮性神経伝達物質受容体に限定されてしまい、生体内での過剰興奮時に起こり得る多様な情報伝達分子に対する細胞応答が興奮性神経伝達物質受容体応答に偏った様式で表現される可能性がある。

【0004】

一方、電気刺激によって惹起された過剰興奮は、より生理的に近いと考えられるが、従来の電気刺激装置では、電極の装着や狭いインキュベーター内での刺激の実行には煩雑さが伴い、電気生理実験を専門としていない生化学者やゲノム科学者など、多くの研究者にとって困難を伴う。また、培養環境下で比較的長時間の電気刺激を必要とするその他の基礎研究及び応用研究の分野において、より簡便でコンパクトな刺激機能の付いた培養装置は研究遂行上の強力な武器となり得る。

10

【0005】

このような簡便性とコンパクト性において理想的な電気刺激装置は、生理学、薬理学、生化学のみならず、再生医学やゲノム科学を遂行している研究施設から極めて大きな潜在需要を引き出す可能性も有している。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は上記課題を解決するためになされたものであり、本発明の目的は、生体細胞又は生体組織（以下、「生体細胞等」ともいう。）の成長過程において、生体細胞等に電気刺激を与えることのできる電気刺激装置を提供することにある。

20

本発明の他の目的は、前記電気刺激装置を用いて生体細胞等の成長を促進又は抑制する方法を提供することにある。

【0007】

【課題を解決するための手段】

本発明者は、生体細胞等の成長と電気刺激との関係について鋭意検討し、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明の目的は、パルス電流を発生させ、かつパルス電流の強度等を調整するための電流発生手段と、前記電流発生手段を固着するためのキャップと、前記キャップから懸垂され、かつパルス電流を電気刺激として培養容器内の培地に与えるために前記電流発生手段の両端に連結された1対の電極とを有することを特徴とする電気刺激装置により達成される。

30

【0008】

本発明の電気刺激装置は、キャップに電流発生手段と1対の電極とを有する構造からなる。このため、本発明の電気刺激装置であれば、装置の作製が容易であると共に、キャップの培養容器からの着脱が簡便である。また、本発明の電気刺激装置はキャップを交換するだけで、簡単に生体細胞等に任意の強度、波形を有するパルス電流を与えて、培養過程において生体細胞等の成長を適宜調整することができる。

【0009】

また、本発明の電気刺激装置の好ましい態様は、次のとおりである。

(1) 前記電流発生手段が、ロジックIC、マイクロスイッチ及び電源からなる電気回路である前記電気刺激装置。

40

(2) 前記電源が電池又は電気供給装置である前記電気刺激装置。

(3) 前記電気回路がプリント基板上に形成され、かつ前記プリント基板と前記キャップとが一体的に装着されている(1)又は(2)の電気刺激装置。

(4) 前記電気回路が、培養容器内の培地に電気刺激として与えられるパルス電流の供給状況を監視するためのモニタリング装置をさらに有する(1)～(3)のいずれかの電気刺激装置。

(5) 前記モニタリング装置が発光素子である(4)の電気刺激装置。

(6) 前記キャップは、マルチウェルプレートの上のウェル配列に対応可能なキャップである(1)～(5)のいずれかの電気刺激装置。

50

(4)

JP 2004 89018 A 2004.3.25

(7) 前記キャップを前記培養容器に着することにより、前記培養容器内の培地に装入された生体細胞又は生体組織に前記電極から前記パルス電流が電気刺激として与えられる(1)～(6)のいずれかの電気刺激装置。

(8) 生体細胞若しくは生体組織の成長を促進又は抑制させるために用いられる(1)～(7)のいずれかの電気刺激装置。

(9) 前記パルス電流が、生体細胞若しくは組織細胞の成長を促進させ又は抑制させる強度を有する(1)～(8)のいずれかの電気刺激装置。

【0010】

本発明の他の目的は、前記電気刺激装置を用いた生体細胞等の成長促進又は抑制方法により達成される。

本発明の方法によれば、従来の刺激装置のように生体細胞等の成長を促進するように培養するだけでなく、生体細胞等に損傷を与えて生体細胞及び生体組織の成長を抑制するように培養することもできる。

【0011】

【発明の実施の態様】

以下に、本発明の電気刺激装置、及びこの電気刺激装置を用いた生体細胞等の成長促進又は成長抑制方法につき詳細に説明する。

【0012】

先ず、本発明の電気刺激装置10の構成について、図面を参酌しながら以下に説明する。

【0013】

図1は、本発明の電気刺激装置10の好適な一実施例を示した概略図である。図1において、符号1は電気刺激装置装着用キャップ（以下、単に「キャップ」という）、符号2は培養容器をそれぞれ表す。図1(A)に示されるように、キャップ1上にはプリント基板3がキャップ1と一体的に装着されている。プリント基板3上には電気供給手段としての電気回路4が形成されている。

【0014】

図1における電気回路4は、ロジックIC5、ボタン電池6、マイクロスイッチ7及び発光素子(LED)8で構成されている。電極9、9'は、陽極と陰極とからなり、キャップ1を貫通してキャップ1内に吊り下げられて配置されている。

【0015】

次に、本発明の電気刺激装置について具体的に説明する。

本発明の電気刺激装置10は、キャップ1上に電流発生手段を有する。電流発生手段は、キャップ1に固着でき、かつパルス電流を発生させ、パルス電流の強度、サイクル等を調整できるものであれば特に制限はない。電流発生手段は、好ましくは、図1に示されるようなロジックIC5、ボタン電池6、マイクロスイッチ7及びLED8からなる電気回路4である。

【0016】

電流発生手段から供給されるパルス電流の波形、強度、サイクル等については、電気刺激を与える生体細胞等の種類、培養目的（成長促進又は成長抑制）に応じて適宜調整することができる。例えば、パルス電流の波形については、三角形、矩形、その他の各種関数波形（例えば、サイン波形、指数関数波形など）などを挙げることができ、中でも矩形であることが好ましい。また、パルス電流の強度は、生体細胞等の成長促進と成長抑制（損傷）の二つの培養目的に応じて適宜調整することができる。例えば、生体細胞等の成長促進を目的として培養する場合、パルス電流の強度は0.1～50mV/mmであり、0.5～25mV/mmであることが好ましく、1～10mV/mmであることがさらに好ましい。一方、生体細胞等の成長抑制（損傷）を目的として培養する場合、パルス電流の強度は50～250mV/mmであり、75～200mV/mmであることが好ましく、100～150mV/mmであることがさらに好ましい。また、パルス電流のサイクルについては、例えば、0.001～1000Hzであり、0.005～100Hzであることが好ましく、0.01～10Hzであることがさらに好ましい。また、パルス電流の通電時

10

20

30

40

50

(5)

JP 2004 89018 A 2004.3.25

間は、例えば、1 μ 秒～10秒であり、5 μ 秒～1秒であることが好ましく、10 μ 秒～0.1秒であることがさらに好ましい。

【0017】

キャップ1は、着する培養容器2のサイズ及び形状に対応させてサイズ及び形状を自由に選択することができる。例えば、キャップ1は、市販の35mm、60mm、90mm、150mmのペトリディッシュ、6穴～884穴マルチウェルプレート、及び直径1.0～30mmの組織培養チューブに対応した円形キャップや、各種スクエアディッシュに対応した方形キャップを用いることができる。好ましくは、キャップ1は、マルチウェルプレートのウェル配列に対応したキャップである。

【0018】

キャップ1の材質は、金属、ガラス、プラスチック等、種々の材料が使用可能であるが、培養物を観察しやすいよう透明性に優れ、取り扱いの際に破損しにくいプラスチック製であることが好ましく、特に高透明で剛性に優れたアクリル樹脂製であることが好ましい。

【0019】

キャップ1は、本発明の電気刺激装置10においてはプリント基板3と一体的に装着されていることが好ましい。プリント基板3は、耐熱性のあるプラスチック製又はガラス繊維等の繊維強化プラスチック製の基板上に電気回路4がプリントされている公知の材料を用いて作製することができる。プリント基板3の形状は特に限定されないが、電気回路4の形状に合わせたものであることが好ましい。

【0020】

電気回路4は、ロジックIC5、電源(6)及びマイクロスイッチ7で構成され、さらに後述する発光素子8を有することが好ましい。電気回路4を形成する方法は、特に限定されるものではないが、例えば、プリント基板上に導電性塗料を塗布してプリント基板上にプリント印刷する方法、あるいは細い導線等を溶接する方法などを挙げることができる。中でも基板上にプリント印刷する方法が回路をコンパクトにできる観点から好ましい。

【0021】

電気回路4を構成するロジックIC5は、汎用ICやプログラマブルICのように、一連の作業指示が設定され又はプログラムにより一連の作業指示を与え得る集積回路(IC)を用いることができる。本発明の電気刺激装置では、ロジックIC5は、パルス電流の大きさを時間軸で変化させる役割を有する。

【0022】

ロジックIC5としては、例えば、汎用ロジックIC、PLD(プログラムロジックデバイス)、CPLD(コンプレックスプログラムロジックデバイス)、FPGA(フィールドプログラムゲートアレイ)、カスタムIC等の公知のものを挙げることができる。汎用ロジックICにはCMOS系のものとバイポーラ系のものがあるが、CMOS系のものであることが好ましい。ロジックIC5は市場で容易に入手できる。ロジックIC5は、さらにコンデンサ等の周辺素子を有していてもよい。

【0023】

本発明の電気刺激装置では、ロジックIC5により調整されたパルス電流を電気回路4に流すように設定されている。このパルス電流は、ロジックIC5により実験の目的に応じて、電圧(強度)、発生の頻度(サイクル)、発生パターン(波形)等を一連のプロトコルとして変更可能であることが好ましい。このような変更可能な刺激のプロトコルを実現する方法としては、ロジックIC5へのプロトコルの書き込みと消去がある。

【0024】

本発明の電気刺激装置における電源は、電池又は外部より電気を供給するための電気供給装置であることが好ましい。電源が電池である場合、電池はキャップ1上に装着する必要があるため、できるだけ小型であることが好ましく、ボタン型であることがさらに好ましい。電池に必要な性能としては、5V以下、好ましくは1～8V程度の電位差の電圧を有していることが好ましい。また、平均10 μ Aのパルス電流を2時間以上、好ましくは5時間以上、さらに好ましくは24時間以上、培地に流し得る容量を有していることが望ま

10

20

30

40

50

(6)

JP 2004 89018 A 2004.3.25

しい。

【0025】

本発明の電気刺激装置の好適な実施例では、電源はボタン電池6が使用されている（図1（A）参照）。ボタン電池6は、水銀電池又はリチウムのような使い捨て型の電池はもちろん、ニッケル-カドミウム電池、電気二重層コンデンサー、リチウム蓄電池等の再充電可能な蓄電池であってもよい。

【0026】

一方、本発明の電気刺激装置における電源が電気供給装置である場合、電気供給装置はACアダプター、AC/DCスイッチング電源、AC/DCコンバーター、各種電源トランス製品のような直流電源であってもよい。

10

【0027】

本発明の電気刺激装置10におけるマイクロスイッチ7は、通常のスイッチと同様、刺激装置の回路におけるパルス電流をオン/オフ制御する装置である。マイクロスイッチ7は、人が操作することにより機械的に切り替わるスイッチであってもよいし、圧力により電流が自動的にオン/オフ制御可能な、例えば圧電素子を用いたスイッチであってもよい。マイクロスイッチ7は、操作が可能である限りできるだけ小型で軽量であることが望ましい。

【0028】

本発明の電気刺激装置では、電気回路4が培養容器2内の培地11へ供給されるパルス電流の供給状況を監視するためのモニタリング装置をさらに有することができ、モニタリング装置として、例えば本発明の好適な実施例で示されるように発光素子（LED）8などが設けられていることが好ましい。

20

本発明の電気刺激装置で好ましく用いられる発光素子8は、パルス電流が電気回路4内に流れると、このパルス電流を光に変換可能とする素子であり、流れるパルス電流の強弱が光の強弱として表すことができる。このため、発光素子8は、培養容器内の培地へ供給されるパルス電流の供給状況を目で認識できる役割を果たす。このような発光素子8として、例えば、発光ダイオード等が用いられることが好ましい。

【0029】

本発明の電気刺激装置における電極9、9'は、パルス電流を培養容器内の培地に電気刺激として与えるための端子である。図1では、電極9、9'は、電気回路4の両端に連結され、キャップ1を貫通してキャップ1内に吊り下げられている。電極9、9'は、1対の陽極と陰極とで構成されている。電極9、9'の形状は、図1ではT字形状であるが、本発明の電気刺激装置における電極はこの形状に限定されるものではなく、その他の形状（例えば、格子あるいは同心円の形状）であってもよい。さらに、電極9、9'の端子の長さは、培養容器2の深さ（高さ）に応じて適宜決定することができる。また、電極9、9'は互いに平行に吊り下げられてもよく、例えば、互いに向かい合ったときにハの字形又は逆ハの字形になるように吊り下げられていてもよい。さらに、電極9、9'は電気発生手段（電気回路4）の両端に連結されていれば、電気発生手段（電気回路4）に連結される位置はキャップ1及び培養容器2の形状に合わせて適宜決定することができる。電極9、9'の材料としては、例えば、銀-塩化銀、白金、チタン、窒化チタン、カーボン、金、ガラス等を挙げることができる。

30

40

【0030】

図1（B）に示されるように、本発明の電気刺激装置10におけるキャップを合するための培養容器2は、その中に培地11を充填できるようになっている。培地11は、通常は、Na、Mg、Ca等の金属イオンを含んだ生理食塩水に各種アミノ酸、例えばL-Asp、L-Gln、L-His及び各種ビタミン、例えば、葉酸、パントテン酸、ニコチンアミド、ビリドキサール、リボフラビン等を含んだ培地等を用いることができる。

【0031】

培地11には従来から組織の培養において提案されている各種サイトカイン類や増殖因子

50

(7)

JP 2004 89018 A 2004.3.25

類、例えばインターロイキン類、ニューロトロフィン類、血小板由来成長因子、上皮成長因子、線維芽細胞成長因子を0.01ng/mlから100ng/mlの範囲の量で配合することが好ましい。また培地11は、固体培地及び液体培地のいずれであってもよい。

【0032】

本発明の電気刺激装置10を用いて生体細胞等の成長を促進又は抑制するように培養する場合、培地11には、生体細胞又は生体組織12（以下「原組織等」という。）を培地表面又は培地中に装入する。この原組織等としては、公知の細胞又は組織として用いられている各種の原組織等を使用することが可能である。例えば、原組織等を構成する細胞（群）及びその幹細胞（群）、原組織等を培養すべき組織の一部、培養すべき組織に類似した組織、細胞、ES細胞等であってもよい。

10

【0033】

本発明の電気刺激装置により刺激が与えられる生体細胞等の「生体」とは、人間をはじめ、犬、ねこ、馬、豚、羊、マウス、ラット等の哺乳動物のほか、鳥類、虫類、両生類、魚類、細菌、ウイルス等の微生物、植物をも包含する概念である。

【0034】

また、本発明の電気刺激装置により刺激を与える「組織」には、生体のあらゆる組織、臓器、それらの一部が含まれる。例えば、中枢神経、末梢神経、骨、軟骨、関節、リンパ管、血管、心臓（心筋、弁）、肺、肝臓、脾臓、すい臓、食道、胃、小腸、大腸、腎臓、子宮、卵巣、精巣、横隔膜、筋肉、皮膚、眼、鼻、気管、舌、唇、爪、毛髪等それらの一部をいう。本発明の電気装置で用いられる組織は、これらの臓器、組織の中でも生体内で興奮性の電気刺激が常在する組織、例えば心臓、骨格筋、平滑筋、末梢神経、脳等の中枢神経等の組織を主な対象とすることができる。

20

【0035】

本発明の電気刺激装置における電気回路4のロジックIC5、電源（6）、マイクロスイッチ、モニタリング装置（8）及び電極9、9'の回路配置は特に限定されるものではなく、キャップ1の形状、大きさ等に応じて適宜決定することができる。例えば、本発明の電気刺激装置では、図2（A）～（C）に示されるような回路配置をとることが可能である。

【0036】

図2（A）は、ロジックIC5がCMOS系IC（74HC）である場合の回路配置を示す。電源（6）から発生した電流はCMOS系ICにおいて、所望の波形のパルス電流に変換され、さらに周辺素子であるコンデンサや抵抗により所望の電流強度、サイクル、通電時間に調整される。調整されたパルス電流は、発光素子（LED）8でモニタリングされながら電極へ供給される。

30

図2（B）は、周辺素子がすべてロジックIC5の中に盛り込まれている場合の回路配置を示す。図2（B）で示される回路配置では、周辺素子の占有スペースが省けるため、装置の小型化に寄与できるというメリットがある。

図2（C）は、周辺素子をすべてロジックICの中に盛り込み、さらにマイクロスイッチ7がロジックスイッチとなっている場合の回路配置を示す。図2（C）で示されるロジックスイッチを使用すると、フェザータッチのスイッチとなるため、軽いタッチとなり、特に好ましい。

40

【0037】

本発明の電気刺激装置は、生体細胞等の成長を促進又は抑制させるために用いられることが好ましい。さらに本発明の電気刺激装置は、生体細胞等の成長促進又は成長抑制方法において用いられることが好ましい。本発明の電気刺激装置を生体細胞等の成長促進又は抑制方法に用いると、実験の目的に応じて予め設定されたパルス電気信号を電気刺激として原組織に与え、興奮入力により発生し得る細胞内カルシウムイオン濃度変動を考慮した生体細胞等の成長を促進又は抑制することができる。

【0038】

本発明の電気刺激装置の製造方法は、特に限定されるものではないが、例えば、通常の単

50

(8)

JP 2004 89018 A 2004.3.25

一容器適用の電極と、刺激回路及びマルチウェルプレート適用の電極配列と、刺激回路とを半導体技術により一つのマイクロチップとして一体形成し、懸垂電極を追加して構築することができる。

【0039】

【実施例】

以下に、本発明の好適な実施例を示す。なお、下の実施例に示される材料、使用量、割合、手順等は、本発明の趣旨を逸脱しない限り適宜変更することができる。したがって、本発明の範囲は以下に示す具体例により限定的に解釈されるべきものではない。

【0040】

(実施例1)

温度37℃、湿度99%、CO₂濃度5%の条件下で、本発明の電気刺激装置を用いて知覚神経細胞とシュワン細胞の混合標本に成長促進を目的とした条件の電気刺激(5 mV/mm, 持続時間1 msec, 0.2 Hz)を10日間印加しながら培養した。結果を図3に示す。

【0041】

(比較例1)

電気刺激を与えなかったことを除き、実施例1と同様の方法で知覚神経細胞とシュワン細胞の混合標本を培養した。結果を図3に示す。

【0042】

図3に示されるように、電気刺激を与えて培養した標本(実施例1、図3(B))では、電気刺激を与えないで培養した標本(比較例1、図3(A))と比べると、著明な神経突起の伸張及び分枝とシュワン細胞の増殖が見られた。

【0043】

(実施例2)

温度37℃、湿度99%、CO₂濃度5%の条件下で、本発明の電気刺激装置を用いて、知覚神経細胞とシュワン細胞の混合標本に成長抑制(細胞障害付与)を目的とした条件の電気刺激(150 mV/mm, 持続時間5 msec, 2 Hz)を5時間印加し、さらに2日間培養した。結果を図4に示す。

【0044】

図4に示されるように、電気刺激前の状態(図4の(A))と比べて、電気刺激後には神経突起を中心に遅発性のネクロシス(壊死)が見られた(図4の(B))。

【0045】

【本発明の効果】

以上の説明したように、本発明の電気刺激装置は、所望のパルス電流を培養容器内の培地に電気刺激として与える装置としては、構造が簡単で製作が容易で安価である。また本発明の電気刺激装置のキャップは簡便に脱着が可能である。

また、本発明の電気刺激装置を用いれば、電気刺激として与えられるパルス電流を調整することにより、生体細胞等の成長を促進又は抑制する方法を提供することができる。

【0046】

特に、本発明の電気刺激装置を用いて生体細胞等を成長させれば、従来の組織の培養装置では静置か、せいぜい下で培養できたに過ぎないのに対し、本発明ではパルス電気信号、好ましくは実験の目的に応じて予め設定されたパルス電気信号を電気刺激として原組織に与え、興奮入力により発生し得る細胞内カルシウムイオン濃度変動を考慮した生体細胞等の成長を促進又は抑制することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の電気刺激装置の一実施例を示す概要図である。

【図2】本発明の電気刺激装置における電気回路の回路配置を示す説明図である。

【図3】本発明の電気刺激装置を用いて神経細胞に電気刺激を与え、成長を促進した場合の状態を表す写真である。

(A) 電気刺激を与えないで培養した場合における結果を示す写真である。

10

20

30

40

50

(9)

JP 2004 89018 A 2004.3.25

(B) 電気刺激を与えて培養した場合における結果を示す写真である。

【図4】本発明の電気刺激装置を用いて神経細胞に電気刺激を与え、成長を抑制した場合の状態を表す写真である。

(A) 電気刺激を与える前の神経細胞の状態を示す写真である。

(B) 電気刺激を与えた後の神経細胞の状態を示す写真である。

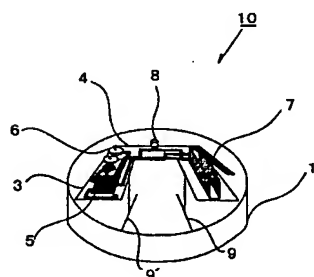
【符号の説明】

- 1 電気刺激装置装着用キャップ
- 2 培養容器
- 3 フリント基板
- 4 電気回路（電流発生手段）
- 5 ロジックIC
- 6 ボタン電池（電源）
- 7 マイクロスイッチ
- 8 発光素子（モニタリング装置）
- 9, 9' 電極
- 10 電気刺激装置
- 11 培地
- 12 生体細胞又は生体組織

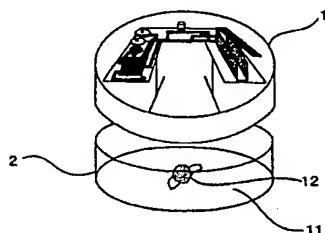
10

【図1】

(A)

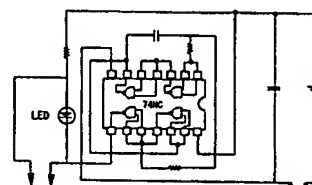


(B)

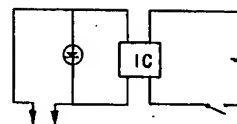


【図2】

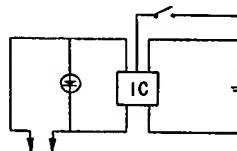
(A)



(B)



(C)



(10)

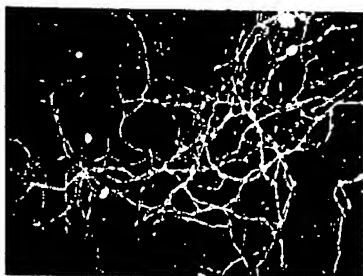
JP 2004 89018 A 2004.3.25

【 3 】

(A)

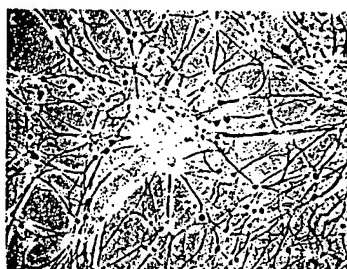


(B)



【 4 】

(A)



(B)

